

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik V

Direktor: Prof. Dr. med. Jürgen Behr

Klinikum der Universität München

Ziemssenstrasse 1

80336 München

Klinische und experimentelle Untersuchungen zur individualisierten Therapie beim
Lungenkarzinom

2018

Habilitationsschrift nach neuem Recht

Vorgelegt von:

Dr. med. Amanda Tufman

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Ziel der Arbeit
3. Forschungsarbeiten und Ergebnisse
 - 3.1 Optimierung der individualisierten Diagnostik bei Patienten mit EML4-ALK - Translokation
 - 3.2 Optimierung der individualisierten Therapie bei Patienten mit EGFR-Mutation
 - 3.3 Optimierung und Weiterentwicklung der Chemotherapie
 - 3.4 Möglichkeiten zur Therapieoptimierung durch Charakterisierung der Immunantwort
 - 3.5 Individualisierte Darstellung der Tumorausdehnung durch Weiterentwicklung des Stagingssystems
- 4.0 Zusammenfassung und Ausblick
- 5.0 Literaturverzeichnis
- Anlage: Publikationen

1. Einleitung

Lungenkrebs ist die häufigste zum Tode führende Krebskrankheit und stellt eine klinische, wissenschaftliche sowie auch gesundheitsökonomische Herausforderung dar. Aktuelle Mortalitätsvorhersagen für Europa schätzen, dass im Jahr 2017 33,27 Männer pro 100 000 und 14,55 Frauen pro 100 000 Menschen an Lungenkrebs sterben werden (Malvezzi et al.). In den vergangenen 5 Jahren ist die Mortalität bei Männern etwas abgefallen und dafür die Mortalität bei Frauen etwas gestiegen. (Malvezzi et al.) Die hohe Mortalität hängt zum Teil mit der Biologie des Tumors, der oft regionale Lymphknoten befällt und früh Fernmetastasen verursacht, und der Entwicklung von Chemotherapieresistenz zusammen. Ungefähr die Hälfte der Lungenkrebspatienten werden in einem bereits fortgeschrittenen Tumorstadium diagnostiziert (McPhail et al., 2015). Auch wenn im Einzelfall auch multimodale Therapiekonzepte zum Einsatz kommen, werden die meisten Patienten im Stadium IV mit einer palliativen systemischen Therapie behandelt. Neben der Chemotherapie kommen auch Tyrosinkinasehemmer, PDL-1- sowie PD-1- Antikörper und antiangiogenetische Medikamente (z.B. Nivolumab, Pembrolizumab, Atezolizumab, Bevacizumab, Nintedanib und Ramucirumab) zum Einsatz.

Zusätzlich kommt es bei einer erheblichen Zahl der Patienten die in einem lokalen oder lokal fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert werden, nach kurativ-intendierter lokaler oder multimodaler Therapie zu einem Rezidiv mit systemischer Ausbreitung (Pisters und Le Chevalier, 2005).

Das Konzept der Individualisierung der Lungenkrebstherapie hat die Therapie und Diagnostik des Lungenkarzinoms, insbesondere bei Patienten im fortgeschrittenen Stadium, über die letzten Jahre beeinflusst: So basiert die Wahl der Therapie zunehmend auf den Ergebnissen der molekularen Pathologie. Insbesondere beim Adenokarzinom wurden bereits vor über 10 Jahren die ersten EGFR-Tyrosinkinasehemmer (TKIs) bei Patienten mit aktivierenden EGFR-Mutationen zugelassen. Inzwischen sind für Patienten mit spezifischen Resistenzmutationen bereits EGFR-TKIs der dritten Generation verfügbar. ALK-TKIs haben sich als Erstlinientherapie für Patienten mit EML4-ALK Translokation sowie ROS1 Translokation etabliert. Die Kombinationstherapie mit Dabrafenib und Trametinib ist für Patienten mit einer BRAF-Mutation zugelassen und weitere spezifische Therapien sind für Patienten mit z.B. MET- oder RET-Veränderungen als off-label Therapie bzw. in Studien möglich. Beim Plattenepithelkarzinom, einer Entität, für die lange Zeit kaum zielgerichtete Therapien zur Verfügung standen, ist seit kurzem der EGFR-Antikörper Necitumumab bei immunhistochemischem Nachweis von EGFR-Expression zugelassen. Bei den Immuncheckpoint-Inhibitoren, z.B. den bereits zugelassenen PD1-Inhibitoren Nivolumab, und Pembrolizumab und dem PD-L1-Antikörper Atezolizumab, haben sich prädiktive molekularpathologische Biomarker noch nicht ausreichend etabliert. In der Erstlinie korreliert zwar eine hohe Expression von PDL-1 mit dem Ansprechen auf Pembrolizumab (Reck et al., 2016), so dass dieses Medikament nur bei hoher PDL-1 Expression in der Erstlinie zugelassen ist, jedoch nimmt der prädiktive Wert von PDL-1 Expression in der Zweitlinie deutlich ab. Der Zulassungstext für Pembrolizumab, basierend auf Daten von der Keynote-010 Studie, verlangt eine PDL-1 Expression in mindestens 1% der Tumorzellen (Herbst et al., 2016). Die Zulassungsstudien für die Zweitlinientherapie mit Nivolumab sowie Atezolizumab haben keine eindeutige prädiktive Aussagekraft für die PDL-1 Expression gezeigt (Borghaei et al. 2015; Brahmer et al., 2015; Fehrenbacher et al., 2016; Vansteenkiste et al., 2015; Rittmeyer et al., 2016),

weswegen die Substanzen unabhängig vom PDL-1 Status als Zweitlinientherapie zugelassen sind. Klinische Merkmale, z.B. starker Nikotin-Abusus, oder das Fehlen von monogenetischen Treibermutationen wie EGFR und ALK, scheinen in einigen Studien eine höhere Prädiktivität zu besitzen als die PDL-1 Expression alleine (Kim et al., 2017). Neue Daten untersuchen die Mutationslast ("mutational load") als möglichen Prädiktor des Ansprechens auf PD1-Hemmer (Peters et al. 2017; Rizvi et al. 2015). Weitere Faktoren wie das Vorhandensein von Tumor-infiltrierenden Lymphozyten sind ebenfalls von Relevanz.

Nicht nur die Therapie und molekularbiologische Diagnostik sondern auch die Stadieneinteilung des Lungenkarzinoms nimmt an prognostischem Wert und dabei auch an Genauigkeit sowie Komplexität zu. Das neue TNM-8 Staging-System versucht die Prognose individueller Patienten anhand von Unterschieden in der lokalen Ausdehnung und Metastasierung des Tumors besser abzubilden. Ein detaillierteres Staging ermöglicht die genauere Betrachtung von Therapien in den durch T, N und M-definierten Subgruppen und trägt so zu einer Weiterentwicklung der individualisierten Therapie bei.

Trotz dieser Fortschritte bleibt das fortgeschrittene Lungenkarzinom eine in der Regel nicht-heilbare und tödlich verlaufende Erkrankung.

2. Ziel der Arbeit:

Das vorliegende Habilitationsprojekt soll zur Weiterentwicklung von individualisierten Therapiestrategien beim Lungenkarzinom beitragen. Insbesondere der optimale Umgang mit prädiktiven Biomarkern, neuen Medikamenten, innovativen Dosierungsformen und der aktuellen TNM-8 Staging-Klassifikation werden durch die vorliegende Arbeit untersucht.

3. Forschungsarbeiten und Ergebnisse

3.1 Optimierung der individualisierten Diagnostik bei Patienten mit EML4-ALK - Translokation

- **Tufman AL**, Edelmann M, Gamarra F, Reu S, Borgmeier A, Schrödl K, Zauber R, Müller-Lisse U, Huber RM. *Preselection Based on Clinical Characteristics in German Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Screened for EML4-ALK Translocation. J Thorac Oncol. 2014 Jan;9(1):109-13*
- Mueller-Lisse* UG, Zimmermann HA, Reiners C, Reu S, Reiser MF, Huber RM, **Tufman A***. *Distinct computed tomography features of non-small-cell lung cancer in a European population with EML4-ALK translocation. Magazine of European Medical Oncology 2016*
- **Tufman A**, Kahnert K, Duell T, Kauffmann-Guerrero D, Milger K, Schneider C, Stump J, Syunyaeva Z, Huber RM, Reu S *Frequency and clinical relevance of EGFR mutations and EML4–ALK translocations in octogenarians with non-small cell lung cancer. Oncotargets and Therapy. 2017; Vol.2017:10: 5179—5186*

Aktuelle Therapieleitlinien empfehlen, bei allen Patienten mit fortgeschrittenen Adenokarzinomen der Lunge auf EGFR-Mutationen sowie EML4-ALK Translokationen zu untersuchen und bei Vorliegen einer Treibermutation eine Therapie mit TKIs einzuleiten (Novello 2016; Masters 2015). Jedoch ist eine solche Untersuchung nicht bei allen Patienten zeitnah vor der Erstlinientherapie möglich (Enewold et al. 2016). In vielen Ländern übersteigen die Kosten und der logistische Aufwand für eine flächendeckende molekularpathologische Testung die Möglichkeiten der Gesundheitssysteme. Außerdem werden bei manchen Biopsien nicht ausreichend viele Tumorzellen erfasst, so dass für die pathologische und molekularpathologische Diagnosesicherung eine Re-Biopsie

erforderlich ist. Dadurch wird die Einleitung der Therapie verzögert. Für solche Fälle wären weitere Kriterien hilfreich, um die Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses schätzen zu können. Dies könnte bei schwierigen Entscheidungsfindungen, z.B. über eine Re-Biopsie bei einem kritisch kranken Patienten, im Sinne einer Nutzen-Risiko-Abwägung von Nutzen sein. Zu diesem Zweck wurde eine für die EML4-ALK-Translokation gescreente Patientenkohorte klinisch weiter charakterisiert und die EML4-ALK-positiven Patienten mit den EML4-ALK negativen Patienten verglichen. Die ALK-Testung wurde insbesondere bei jüngeren Patienten sowie bei Patienten die nie oder wenig geraucht haben durchgeführt. Von 61 untersuchten Patienten waren dabei 10 ALK positiv (16,4 %). Tabelle 1 fasst die klinischen Charakteristika der Kohorte zusammen. Dabei zeigte sich, dass die ALK-positiven Patienten weniger geraucht hatten (pack-years vor der Erstdiagnose) als die ALK-negativen Patienten. Zusätzlich hatten ALK-positive Patienten zum Zeitpunkt der ALK-Testung bereits mehr Therapielinien erhalten und lebten schon länger mit der Lungenkrebsdiagnose im Vergleich zu ALK-negativen Patienten.

Die Studie konnte die klinischen Charakteristika von Patienten mit EML4-ALK Translokation genauer beschreiben, und trägt somit zur besseren Aufarbeitung von kleinen Tumorbiopsien bei.

In der vorliegenden Studie wurden die ALK-positive Patienten mit Crizotinib behandelt. Das klinische Ansprechen und der Ort der Progression unter Crizotinib werden in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 1: klinische Charakteristika von Patienten mit ALK-positivem bzw. ALK-negativem NSCLC (Quelle: Tufman et al., 2014)

urheberrechtlich geschützt:

Tufman AL, Edelmann M, Gamarra F, Reu S, Borgmeier A, Schrödl K, Zauber R, Müller-Lisse U, Huber RM. Preselection Based on Clinical Characteristics in German Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Screened for EML4-ALK Translocation.

J Thorac Oncol. 2014 Jan;9(1):109-13

Tabelle 2: klinische Charakteristika und Ansprechen auf Crizotinib bei Patienten mit ALK-positivem NSCLC (Quelle: Tufman et al., 2014)

urheberrechtlich geschützt:

Tufman AL, Edelman M, Gamarra F, Reu S, Borgmeier A, Schrödl K, Zauber R, Müller-Lisse U, Huber RM. Preselection Based on Clinical Characteristics in German Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Screened for EML4-ALK Translocation.

J Thorac Oncol. 2014 Jan;9(1):109-13

Um die Präselektion von Patienten für eine molekularbiologische Testung weiter zu optimieren, untersuchten wir in einer weiteren Studie die Bild-Morphologie von ALK-positiven Lungenkarzinomen und ALK-negativen Kontrollen (Müller-Lisse et al., 2016). Dabei konnten wir morphologische Charakteristika, die mit einer EML4-ALK Translokation einhergehen, identifizieren, um Patienten für die ALK-Testung und die darauffolgende TKI-Therapie zu priorisieren. Dabei wurden die CT-Bilder von zehn Lungenkrebspatienten mit und 29 Lungenkrebspatienten ohne EML4-ALK Translokation anhand der Tumorlokalisation (zentrale Lage vs. periphere Lage vs. Tumormanifestation zentral und peripher) sowie sechs weitere bereits beschriebene Tumormerkmale beschrieben: Dazu zählen Tumorwachstum (fokal vs. diffus), Anzahl der Herde (Einzelherd vs. multiple Herde), Abgrenzung im Gewebe (umschriebener vs. infiltrativer Tumor), Tumorstruktur

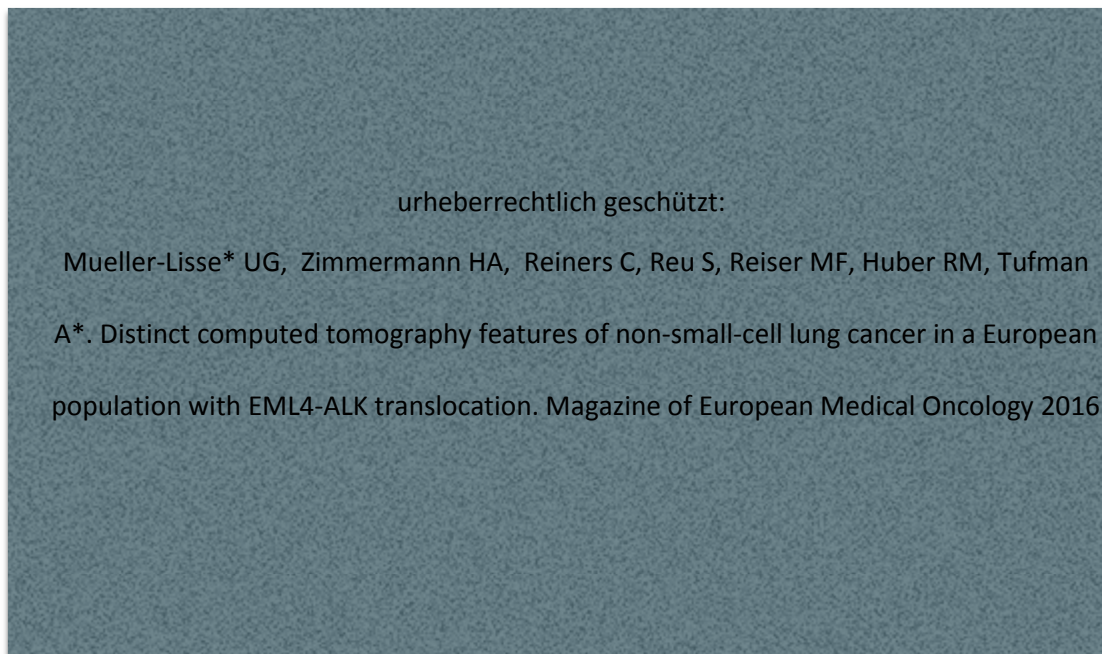
(solider Tumor vs. Tumor mit subsolidem Anteil), Morphologie der Tumor-nahe Blutgefäße (normal vs. verändert) und Lufteinschlüsse im Tumor (vorhanden vs. nicht-vorhanden).

Abbildung 1 zeigt exemplarisch die Tumormorphologie im CT-Thorax bei ALK-positiven sowie ALK-negativen Patienten. Die CT-Bilder wurden von zwei unabhängigen Radiologen anhand der definierten morphologischen Merkmalen beurteilt (Ergebnisse in Tabelle 3).

Dabei wurde eine signifikante Korrelation zwischen Tumormorphologie in der CT-Thorax-Untersuchung und einer EML4-ALK Translokation für die folgenden

Tumormerkmale gezeigt (Tabelle 4): Diffuses Wachstum, multiple Herde und kombinierte zentrale-/periphere Lage. Als Konsequenz könnte es sinnvoll sein, die ALK-Diagnostik bei Patienten mit einer solchen Tumormorphologie zu priorisieren.

Abbildung 1: Beispiele der 6 morphologischen CT-Merkmale die bei ALK-positiven sowie ALK-negativen Patienten untersucht wurden (Quelle: Müller-Lisse et al., 2016)



urheberrechtlich geschützt:

Mueller-Lisse* UG, Zimmermann HA, Reiners C, Reu S, Reiser MF, Huber RM, Tufman A*. Distinct computed tomography features of non-small-cell lung cancer in a European population with EML4-ALK translocation. Magazine of European Medical Oncology 2016

Tabelle 3: CT-Morphologie von Lungentumoren mit EML4-ALK Translokation (ALK +, n=10) bzw. ohne EML4-ALK Translokation (ALK -, n=29) (Quelle: Müller-Lisse et al., 2016)

urheberrechtlich geschützt:

Mueller-Lisse* UG, Zimmermann HA, Reiners C, Reu S, Reiser MF, Huber RM, Tufman A*.

Distinct computed tomography features of non-small-cell lung cancer in a European population with EML4-ALK translocation. Magazine of European Medical Oncology 2016

Tabelle 4: Wahrscheinlichkeit einer EML4-ALK Translokation (relative risk (RR), odds ratio (OR) und 95% confidence interval (95% CI), basierend auf 3 morphologischen CT-Charakteristika (Beurteilung durch 2 unabhängige Radiologen, n=39) (Quelle: Müller-Lisse et al., 2016)

urheberrechtlich geschützt:

- Mueller-Lisse* UG, Zimmermann HA, Reiners C, Reu S, Reiser MF, Huber RM, Tufman A*. Distinct computed tomography features of non-small-cell lung cancer in a European population with EML4-ALK translocation. Magazine of European Medical Oncology 2016

In einer weiteren Arbeit wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen fortgeschrittenem Alter (insbesondere Patienten über 80 Jahre) und einer EML4-ALK-Translokation bzw. EGFR-Mutationen untersucht.

Bislang wird altersunabhängig eine ALK- bzw. EGFR-TKI-Therapie für NSCLC-Patienten mit entsprechenden molekularbiologischen Veränderungen empfohlen. Dabei fehlen jedoch Daten zu Häufigkeit sowie klinischer Relevanz von EGFR-Mutationen und EML4-ALK Translokationen bei älteren Patienten. Wir haben daher in einer Lungenkarzinomkohorte Patienten im Alter von 70-74, 75-79 und über 80 Jahren auf das Vorliegen einer EGFR-Mutation sowie ALK-Translokation untersucht. Interessanterweise traten Treibermutationen insbesondere bei den über 80-Jährigen gehäuft auf: 75% (≥80

Jahre) vs. 27% (70-74Jahre sowie 75-79 Jahre). Eine zweite Kohorte bestätigte die hohe Inzidenz (40%) (Tabelle 5).

Tabelle 5: Patientencharakteristika und Inzidenz von genetischen Treiberveränderungen in zwei Lungenkarzinomkohorten (Quelle: Tufman et al., 2017).

urheberrechtlich geschützt:

Tufman A, Kahnert K, Duell T, Kauffmann-Guerrero D, Milger K, Schneider C, Stump J, Syunyaeva Z, Huber RM, Reu S Frequency and clinical relevance of EGFR mutations and EML4–ALK translocations in octogenarians with non-small cell lung cancer. *Oncotargets and Therapy*. 2017; Vol.2017:10: 5179—5186

Beide Kohorten wurden bezüglich Nikotinanamnese, Therapie und dem Ansprechen auf die Therapie analysiert. Hierbei zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen Alter und Nikotinabusus (pack years): Patienten, die in jüngerem Alter an Lungenkrebs erkrankten, hatten mehr geraucht als Patienten, die erst in höherem Alter erkrankten. Ältere Patienten, die eine EGFR- bzw. ALK-Tyrosinkinasehemmertherapie (TKIs) erhielten, zeigten ein Gesamtüberleben von 75% 12 Monate nach Erstdiagnose sowie von 57% nach 24 Monaten. Diese Ergebnisse verdeutlichen daher die hohe klinische Relevanz einer EGFR-Mutation sowie ALK-Translokation im Alter, insbesondere bei Patienten über 80 Jahren, und bestätigen weiterhin die Wichtigkeit der molekularbiologischen Testung in dieser bislang wenig erfassten Subgruppe.

3.2 Optimierung der individualisierten Therapie bei Patienten mit EGFR-Mutation

Hoffknecht P, **Tufman*A**, Wehler T, Pelzer T, Wiewrodt R, Schütz M, Serke M, Stöhlmacher-Williams J, Märten A, Huber RM, Dickgreber M for the Afatinib Compassionate Use Consortium (ACUC). Efficacy of the Irreversible ErbB Family Blocker Afatinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI)-pretreated Non-small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases or Leptomeningeal Disease. J. Thorac Oncol. 2014 Sep 22. *contributed equally*

***Tufman A**, Schrödl K, Scheithauer H, Duell T, Copenrath E, Huber RM. Treatment of isolated intracranial progression of lung cancer during treatment with systemic epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs): a case report and review of the literature, EMJ Respir. 2015;3[1]:19-28.*

NSCLC-Patienten mit einer aktivierenden EGFR-Mutation, insbesondere bei Vorliegen einer klassischen Deletion 19 oder Exon 21 L858R Punktmutation, sprechen meist sehr gut auf EGFR-TKIs an. Auch Patienten mit seltener oder komplexer EGFR-Mutation können von einem EGFR-TKI profitieren, jedoch ist die Ansprechrates und auch die Dauer des Ansprechens geringer als bei klassischen Mutationen und auch schlechter vorhersagbar. Bisherige große, randomisierte Studien schlossen nur Patienten mit klassischen Mutationen ein (Optimal: Zhou et al. 2011; Eurtac: Rosell et al. 2012). Es gibt jedoch Hinweise, dass auch Patienten mit seltenen oder komplexen EGFR-Mutationen von einer Therapie mit EGFR-TKI profitieren könnten, auch wenn die Ansprechrates sowie die Dauer des Ansprechens reduziert sind (Kauffmann et al., 2017).

Unabhängig vom initialen Ansprechen entwickeln sich im Laufe der Therapie mit EGFR-TKIs sowohl bei Tumoren mit einer klassischen oder nicht-klassischen Mutation Therapieresistenzen und es kommt nach mehreren Monaten bis wenigen Jahren zum Tumorprogress. Häufig ist das Gehirn als Metastasierungsort bei der Progression unter TKIs betroffen und stellt dies den limitierenden Faktor für die Gesamtprognose dar. Um die Wirksamkeit von TKIs der zweiten Generation (z.B. Afatinib) gegen Hirnmetastasen, die unter den Medikamenten der ersten Generation (z.B. Erlotinib oder Gefitinib) auftreten zu untersuchen, analysierten wir Patienten, die im Rahmen eines compassionate use programs (CUP) mit Afatinib behandelt wurden (Hoffknecht, Tufman et al. 2014). Hierbei wurden nur Patienten mit Progression unter Erlotinib bzw. Gefitinib in das CUP eingeschlossen und mit Afatinib behandelt. Von 2010 bis 2013 wurden insgesamt 573 NSCLC-Patienten mit Progression nach mindestens einer Chemotherapie und einer EGFR-TKI Therapie im Rahmen des CUPs mit Afatinib behandelt (Tabelle 6). Davon hatten 100 Patienten zum Zeitpunkt des Therapie-Beginns ZNS-Metastasen (Hirnmetastasen bzw. leptomeningeale Metastasen). Obwohl die EGFR-Analyse zum CUP-Einschluss nicht notwendig war, hatten 74% der eingeschlossenen Patienten eine dokumentierte EGFR-Mutation. Davon waren 77% der EGFR-Mutationen eine Exon 19 Deletion oder eine Exon 21 L858R Mutation.

urheberrechtlich geschützt:

Hoffknecht* P, Tufman*A, Wehler T, Pelzer T, Wiewrodt R, Schütz M, Serke M, Stöhlmacher-Williams J, Märten A, Huber RM, Dickgreber M for the Afatinib Compassionate Use Consortium (ACUC). Efficacy of the Irreversible ErbB Family Blocker Afatinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI)-pretreated Non-small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases or Leptomeningeal Disease. J. Thorac Oncol. 2014 Sep 22. *contributed equally

Tabelle 6: Charakteristika von Patienten mit bzw. ohne Hirnmetastasen in einem Afatinib-Compassionate Use Programm (Quelle: Hoffknecht, Tufman et al., 2014)

Tabelle 6 (Fortsetzung)

urheberrechtlich geschützt:

Hoffknecht* P, Tufman*A, Wehler T, Pelzer T, Wiewrodt R, Schütz M, Serke M, Stöhlmacher-Williams J, Märten A, Huber RM, Dickgreber M for the Afatinib Compassionate Use Consortium (ACUC). Efficacy of the Irreversible ErbB Family Blocker Afatinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI)-pretreated Non-small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases or Leptomeningeal Disease. J. Thorac Oncol. 2014 Sep 22. *contributed equally

Bei Patienten mit ZNS-Metastasen betrug die mediane Zeit bis zum Therapieversagen unter Afatinib 3,6 Monate und unterschied sich nicht signifikant von der Zeit zum Therapieversagen bei Patienten ohne ZNS-Metastasen (HR: 1.16; 95% CI, 0.83–1.62; $p = .52$) (Abbildung 2).

Abbildung 2: Zeit bis zum Therapieversagen bei Patienten mit bzw. ohne Hirnmetastasen unter Therapie mit Afatinib (Quelle: Hoffknecht, Tufman et al., 2016)

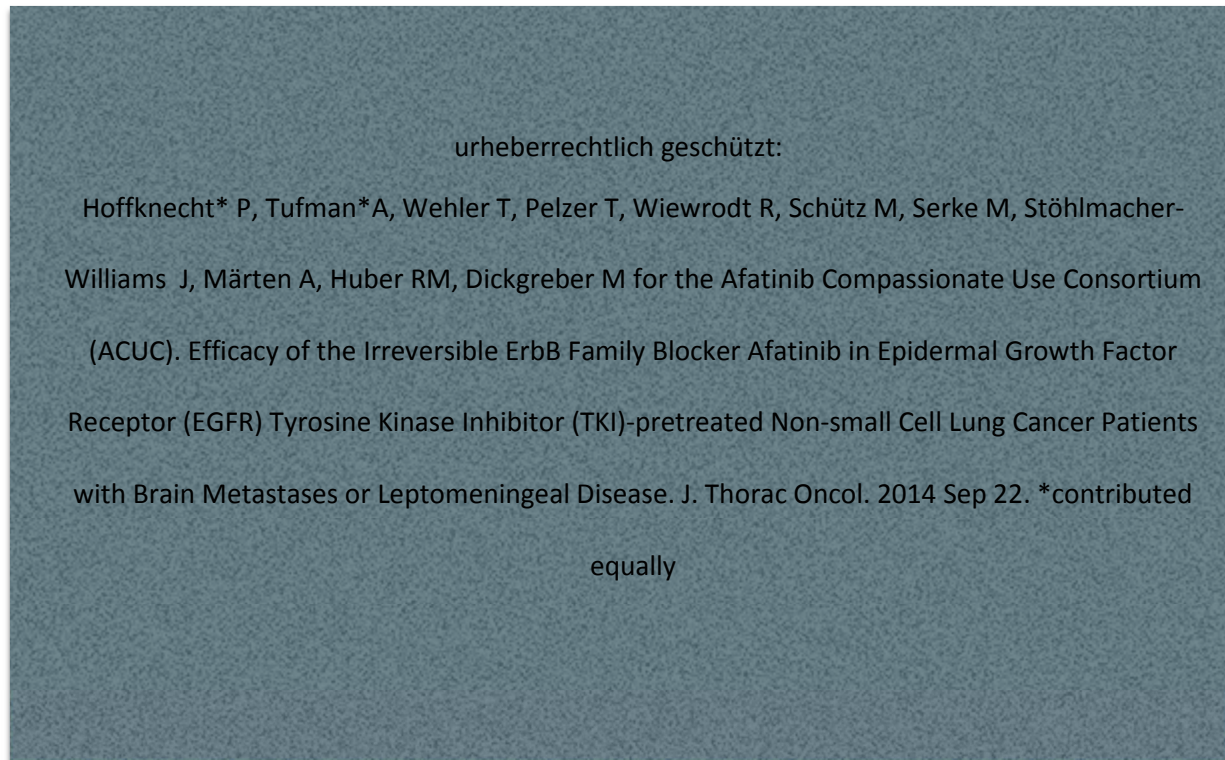
urheberrechtlich geschützt:

Hoffknecht* P, Tufman*A, Wehler T, Pelzer T, Wiewrodt R, Schütz M, Serke M, Stöhlmacher-Williams J, Märten A, Huber RM, Dickgreber M for the Afatinib Compassionate Use Consortium (ACUC). Efficacy of the Irreversible ErbB Family Blocker Afatinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI)-pretreated Non-small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases or Leptomeningeal Disease. J. Thorac Oncol. 2014 Sep 22. *contributed equally

Die Daten zeigten außerdem eine partielle Remission (PR) bei 18% (N=12/68), eine Krankheitsstabilisierung (SD) bei 53% (N=36/68) und eine Progression (PD) bei 29% (N=20/68) unter Afatinib-Therapie (Abbildung 3).

Das Therapieansprechen hielt dabei zwischen 21 und 395 Tagen an (Durchschnitt 120 Tage). Von den Patienten mit ZNS-Metastasen hatten 35% (N=11/31) ein Ansprechen im ZNS und 5 davon (16%) sprachen hauptsächlich im ZNS und nicht systemisch an. (Abbildung 4). 66% (N=21/32) der Patienten mit ZNS-Metastasen erreichten mindestens eine Krankheitsstabilisierung (disease control) unter Afatinib.

Abbildung 3: Ansprechen unter Therapie mit Afatinib bei Patienten nach EGFR-TKI Vorbehandlung im Rahmen eines Compassionate Use Programms (Quelle: Hoffknecht, Tufman et al., 2016)



Das Ansprechen von ZNS-Metastasen unter Afatinib lässt auf eine klinisch relevante Konzentration von Afatinib im Gehirn rückschließen. Bei einigen Patienten konnte anhand von Liquorproben die Afatinib-Konzentration gemessen werden. Bei Patienten mit sehr gutem Ansprechen auf Afatinib konnte eine Konzentration von knapp 1nmol gemessen werden (Abbildung 5).

Abbildung 4: Systemisches Ansprechen sowie Ansprechen im ZNS im Rahmen des Afatinib-Compassionate Use Programms. (Quelle: Hoffknecht, Tufman et al., 2016)

urheberrechtlich geschützt:

Hoffknecht* P, Tufman*A, Wehler T, Pelzer T, Wiewrodt R, Schütz M, Serke M, Stöhlmacher-Williams J, Märten A, Huber RM, Dickgreber M for the Afatinib Compassionate Use Consortium (ACUC). Efficacy of the Irreversible ErbB Family Blocker Afatinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI)-pretreated Non-small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases or Leptomeningeal Disease. J. Thorac Oncol. 2014 Sep 22. *contributed equally

Abbildung 5: Liquor- sowie Blut-Konzentration von Afatinib bei einem Patienten in dem Afatinib Compassionate Use Programm (Quelle: Hoffknecht, Tufman et al., 2016)

urheberrechtlich geschützt:

Hoffknecht* P, Tufman*A, Wehler T, Pelzer T, Wiewrodt R, Schütz M, Serke M, Stöhlmacher-Williams J, Märten A, Huber RM, Dickgreber M for the Afatinib Compassionate Use Consortium (ACUC). Efficacy of the Irreversible ErbB Family Blocker Afatinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI)-pretreated Non-small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases or Leptomeningeal Disease. J. Thorac Oncol. 2014 Sep 22. *contributed equally

Die Behandlung therapieresistenter Hirnmetastasen mit einer hochdosierten EGFR-TKI-Therapie und mögliche Komplikationen wurden außerdem anhand eines Fallberichts und einer Zusammenstellung der relevanten Literatur dargestellt (Tufman et al., 2015).

3.3 Optimierung und Weiterentwicklung der Chemotherapie

Guetz S*, **Tufman A***, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial. *Oncotargets and Therapy*. 2017. *contributed equally

Bei den meisten kaukasischen Patienten mit Lungenkarzinom wird weder eine EGFR-Mutation noch eine EML4-ALK Translokation festgestellt. Insbesondere bei diesen Tumoren sind die Weiterentwicklung klassischer systemischer Therapien, die Optimierung der Immuntherapie und eine verbesserte Integration und Individualisierung von multimodalen Therapieverfahren notwendig.

Beim fortgeschrittenen Lungenkarzinom wird die klassische Platin-basierte Chemotherapie in 3 - 4-wöchigen Zyklen verabreicht. Meistens erfolgt die Chemotherapiegabe an nur einem oder zwei Tagen des Zyklus. Eine metronome, tägliche Chemotherapiegabe hat möglicherweise Vorteile gegenüber den klassischen Chemotherapie-Zyklen. Es gibt zum Beispiel Hinweise, dass diese auch antiangiogenetisch und immunaktivierend wirken kann. (Kerbel et al., 2004, Torimura et al, 2013; Bocci et al, 2016). Daher untersuchten wir in einer Phase I Studie die Verträglichkeit einer innovativen täglichen Chemotherapie mit Vinorelbin (Guetz, Tufman et al, 2017). Darin wurden 27 Patienten eingeschlossen, von denen 20 davon im Rahmen einer Dosis-Eskalationsphase behandelt wurden und sieben weitere Patienten die empfohlene Dosierung erhielten (Abbildung 6).

urheberrechtlich geschützt:

Guetz S*, Tufman A*, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial.

Oncotargets and Therapy. 2017. *contributed equally

Abbildung 6: Patienten die im Rahmen einer Phase I Studie mit täglich-dosiertem Vinorelbine behandelt wurden. (Quelle: Guetz, Tufman A et al. 2017)

In der Dosis-Eskalationsphase wurden Patienten mit Vinorelbin oral in einer täglichen Dosierung von 20mg, 30mg, 40mg oder 50mg behandelt. Bei 17 Patienten wurde letztlich die ermittelte, maximal tolerierte Dosis (MTD) verabreicht und analysiert. Dabei wurden anhand der Toxizitätstestung 50mg/Tag Vinorelbin oral als MTD festgelegt. Die empfohlene Dosierung (recommended dose; RD) wurde zunächst auf 40mg/Tag festgelegt und weitere sieben Patienten wurden mit dieser Dosierung behandelt. Für die intention-to-treat (ITT)-Analyse wurde die Toxizität der Therapie bei allen 27 eingeschlossenen Patienten aufgearbeitet. Bei insgesamt 21 Patienten konnte das Ansprechen auf die Therapie evaluiert werden (response). Die Charakteristika der

Patienten in der MTD-Gruppe, RD-Gruppe, Response-Gruppe und ITT-Gruppe werden in Tabelle 7 zusammengefasst.

urheberrechtlich geschützt:

Guetz S*, Tufman A*, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial. Oncotargets and Therapy. 2017. *contributed equally

Tabelle 7: Patientencharakteristika in der Phase I Vinorelbine-Studie. (Quelle: Guetz, Tufman A et al. 2017)

Fast alle Patienten hatten mindestens eine systemische Therapie vor Studienbeginn erhalten und einige waren mit bis zu 5 Therapielinien ausgedehnt vorbehandelt. Mehr als die Hälfte der Patienten hatte zuvor eine Strahlentherapie erhalten.

Dennoch wurde die tägliche, orale Therapie mit Vinorelbin zufriedenstellend vertragen: Bei der ersten und zweiten Dosisstufe (20mg/Tag bzw. 30m/Tag) trat keine limitierende Toxizität auf. Bei der dritten (40mg/Tag) sowie vierten (50mg/Tag) Dosierungsstufen traten Neutropenie, febrile Neutropenie sowie nicht-hämatologische Toxizitäten (Colitis, Pneumonie und Sepsis) auf, so dass abschließend eine Anfangsdosierung von 30mg/Tag mit einer möglichen Steigerung auf 40mg/Tag bei guter Verträglichkeit empfohlen wird (Tabelle 8).

Tabelle 8: Dosis-limitierende Toxizität unter Vinorelbin. (Quelle: Guetz, Tufman A et al. 2017)

urheberrechtlich geschützt:

Guetz S*, Tufman A*, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial.

Oncotargets and Therapy. 2017. *contributed equally

Weitere Details zu den hämatologischen sowie nicht-hämatologischen Therapienebenwirkungen werden in Tabelle 9 zusammengefasst.

urheberrechtlich geschützt:

Guetz S*, Tufman A*, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial. *Oncotargets and Therapy*. 2017. *contributed equally

Tabelle 9: Hämatologische sowie nicht-hämatologische Nebenwirkungen unter Vinorelbin (Quelle: Guetz, Tufman A et al. 2017).

Pharmakokinetische Daten waren für 21 Patienten verfügbar, wobei bei höheren Vinorelbin-Dosierungen höhere Blutkonzentrationen des Medikaments gemessen wurden. Die kontinuierliche Medikamentenexposition bei 30mg/Tag sowie 40mg/Tag (Talspiegel $\geq 1\text{ng/ml}$) (Abbildung 7)

Abbildung 7: Vinorelbinkonzentration im Blut an Tag 1 sowie 21 (Zyklus 21) bei oraler Vinorelbingabe (Quelle: Guetz, Tufman A et al. 2017)

urheberrechtlich geschützt:

Guetz S*, Tufman A*, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial.

Oncotargets and Therapy. 2017. *contributed equally

urheberrechtlich geschützt:

Guetz S*, Tufman A*, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial.

Oncotargets and Therapy. 2017. *contributed equally

Tabelle 10: Therapie-Ansprechen auf Vinorelbin oral

(Quelle: Guetz, Tufman A et al. 2017)

In der vorliegenden Phase-I Studie wurde auch die Wirksamkeit der Therapie erfasst: Wir stellten bei dieser zum Teil umfangreich vorbehandelten Patientenkohorte zwar kein Therapieansprechen mit einer kompletten bzw. partiellen Remission fest, jedoch sahen wir bei vier Patienten eine Krankheitsstabilisierung (disease control rate 19%). Bei den Patienten mit einer Krankheitsstabilisierung (stable disease) zeigte die Kaplan-Meier-Analyse eine mediane Dauer der stabilen Erkrankung (duration of disease control) von 8,7

Monate. In der intent-to-treat-Population (n=27) betrug die Zeit bis zur Progression (TTP) 1,7 Monate und das Gesamtüberleben (OS) 5,7 Monate (Tabelle 10).

3.4 Möglichkeiten zur Therapieoptimierung durch Charakterisierung der Immunantwort

Tufman et al., Interleukin-22 is elevated in lavage from patients with lung cancer and other pulmonary diseases. BMC Cancer. 2016

In einer translationalen Arbeit untersuchten wir die Expression des Zytokins IL-22 in der bronchoalveolären Lavage (BAL) von Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich zu Patienten mit nicht-malignen Lungenerkrankungen. Die BAL-Proben wurden aus einem tumornahen bzw. tumortragenden Lungensegment gewonnen. Solche Proben von einem lokalen Kompartiment könnten, im Vergleich zu Blutproben aus der systemischen Zirkulation, eine genauere Aussage über das Milieu der Tumorumgebung ermöglichen. Kleine und peripher-liegende Tumore sind für eine Biopsie nicht immer gut erreichbar, aber eine BAL aus dem betroffenen Segment ist zumeist möglich und könnte in bestimmten Situationen eine klinisch relevante Alternative zu einer klassischen Biopsie darstellen.

IL-22 wird von unterschiedlichen Immunzellpopulationen sowie auch von Tumorzellen exprimiert (Whittington et al., 2004). Es gibt Hinweise, dass IL-22 in Lungentumoren exprimiert wird und auch bei der Chemotherapieresistenz von Lungenkrebszelllinien eine Rolle spielt (Kobold et al., 2013). Diese Arbeit sollte prüfen, ob IL-22 in Lavageproben messbar ist und ob die IL-22-Konzentration mit der Diagnose Lungenkarzinom bzw. mit dem Grad einer lokalen oder systemischen Entzündung korreliert.

Es wurden Lavageproben von 195 Patienten analysiert. Die Verteilung der Zellpopulationen (Makrophagen, Neutrophile, Lymphozyten, Eosinophile und CD4/CD8-Quotient) wurde in den Lavageproben analysiert. Die IL-22 Expression wurde mittels ELISA gemessen. Wir fanden eine erhöhte IL-22 Expression bei Patienten mit Lungenkarzinom in Vergleich zu Patienten ohne signifikante Lungenerkrankungen

(Kontrollgruppe). Patienten mit einer Pneumonie zeigten ebenfalls eine erhöhte IL-22 Expression in der Lavage. Daher wurde auch eine Untergruppe der Lungenkrebspatienten, die nicht gleichzeitig eine Pneumonie bzw. COPD hatten, analysiert. Darstellung/ Interpretation der Ergebnisse (Abbildung 8).

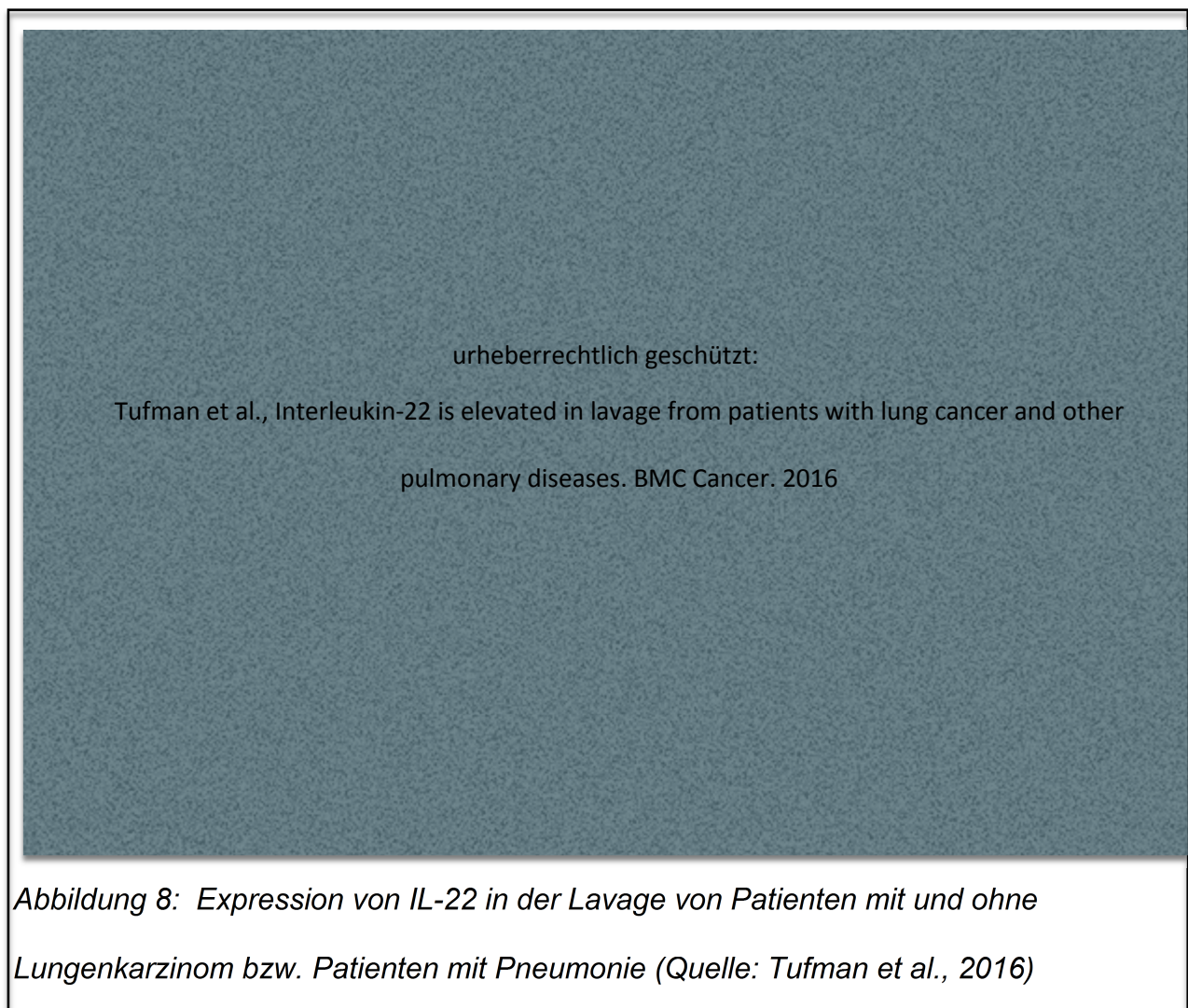


Abbildung 8: Expression von IL-22 in der Lavage von Patienten mit und ohne Lungenkarzinom bzw. Patienten mit Pneumonie (Quelle: Tufman et al., 2016)

Es wurde keine Korrelation zwischen IL-22 Expression und systemischen Entzündungsparametern wie Leukozytenzahl, Lymphozytenzahl, Neutrophilenzahl und CRP weder bei Lungenkarzinompatienten noch bei Patienten mit einer Pneumonie gefunden (Tabelle 11). Die Daten deuten also darauf hin, dass IL-22 in der Lunge lokal produziert wird und primär nicht durch eine systemische Entzündung bzw. durch

systemische Zellpopulationen entsteht. Wir fanden auch keine Korrelation zwischen der IL-22 Expression in der Lavage und den Zellpopulationen in der Lavage. Somit scheint es unwahrscheinlich, dass eine einzige Zellreihe für die IL-22 Produktion in der Lunge verantwortlich ist. Vielmehr sprechen die Daten dafür, dass unterschiedliche Zellpopulationen IL-22 in der Lunge produzieren.

urheberrechtlich geschützt:

Tufman et al., Interleukin-22 is elevated in lavage from patients with lung cancer and other pulmonary diseases. BMC Cancer. 2016

Tabelle 11: Keine Korrelation zwischen IL-22 Expression und systemischer Entzündung bei Patienten mit Lungenkarzinom bzw. Pneumonie (Quelle: Tufman et al., 2016)

Diese Arbeit zeigt außerdem, dass Lavageproben aus der Lunge primär das Lungenkompartiment und nicht die systemische Zirkulation darstellen. Somit könnten Lavageproben dazu dienen, lokale immunologische Verhältnisse bei Patienten mit Lungenkarzinom darzustellen.

Diese Arbeit verdeutlicht die Bedeutung immunologischer Prozesse beim Lungenkarzinom. Daher wächst auch die Relevanz der Immuntherapie beim Lungenkarzinom: Mehrere Checkpoint-Inhibitoren sind bereits für die Therapie im fortgeschrittenen Stadium zugelassen. Jedoch ist es noch nicht gelungen, einen zuverlässigen und aussagekräftigen prädiktiven Biomarker für das Ansprechen auf Checkpoint-Inhibitoren zu finden. PDL-1 wird zwar als Biomarker für das Ansprechen auf insbesondere eine Erstlinientherapie mit Pembrolizumab genutzt, weist dabei jedoch Defizite auf: PDL-1 ist weder ausreichend sensitiv noch hoch spezifisch für das Ansprechen auf Checkpoint-Inhibitoren in der Erstlinie und seine Prädiktivität ist in der Zweitliniensituation nochmals niedriger. Nachdem eine wiederholte Tumorbiopsie nicht immer sinnvoll erscheint, könnte die Lavage eine wenig-invasive Alternative darstellen, die lokale Immunreaktion zu abbilden. Aktuell werden Studien durchgeführt, um Biomarker in Lavageproben mit dem Therapieansprechen bei Therapie mit Checkpoint-Inhibitoren zu korrelieren (z.B. clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02937402). Insbesondere für die Patienten mit Lungenkarzinom mit therapierefraktären Treibermutationen stellt die Checkpoint-Inhibition eine wichtige Option bei der systemischen Therapie dar. Ein Biomarker mit verbessertem prädiktivem Wert für das Ansprechen auf eine Checkpoint-Inhibition hätte somit große klinische und wirtschaftliche Bedeutung.

3.5 Individualisierte Darstellung der Tumorausdehnung durch Weiterentwicklung des Staging-Systems

Tufman et al., Clinical Relevance of the M1b and M1c Descriptors from the Proposed TNM 8 Classification of Lung Cancer. Strahlentherapie und Onkologie 2017

Unabhängig von der Molekularbiologie des Tumors richtet sich die Therapie des Lungenkarzinoms zum großen Teil nach dem Tumorstadium. Die 8. Version der TNM-Klassifikation trat Anfang 2017 in Kraft. Eine wesentliche Änderung gegenüber der 7. Version ist die Aufteilung des Stadium IV in IVa und IVb mit einem neuen M-Deskriptor: M1c beschreibt Krankheitsbilder mit mehr als einer Fernmetastase, und die geänderte Bezeichnung M1b für eine einzige Fernmetastase. Die neue M1b-Gruppe umfasst Tumore mit einer Oligometastasierung und geht mit einer besseren Prognose einher (Eberhardt et al., 2015).

Kurz nach der Veröffentlichung der neuen M-Klassifikation werteten wir retrospektiv unsere Tumordatenbank aus, um die Bedeutung der neuen M-Klassifikation für Patienten in Deutschland zu prüfen. Wir konnten zeigen, dass die Unterteilung von metastasierten Patienten in M1b (eine extrathorakale Metastase) und M1c (mehr als eine extrathorakale Metastase) in dieser Kohorte prognostisch relevant war, und dass der Einsatz eines FDG-PET-CTs beim Staging im Vergleich zu einem Staging ohne PET-CT zu einer besseren prognostischen Aussage des neuen Staging-Systems führt (Tufman et al., 2017).

Die Studie untersuchte 82 Patienten mit Lungenkarzinom (22 Frauen und 60 Männer; Tabelle 12). 72 Patienten hatten eine oder mehrere extrathorakale Metastasen; davon hatten 14 Patienten nur eine solitäre extrathorakale Metastase und wurden als M1b (TNM-Klassifikation 8) klassifiziert und 58 Patienten hatten mehr als eine extrathorakale

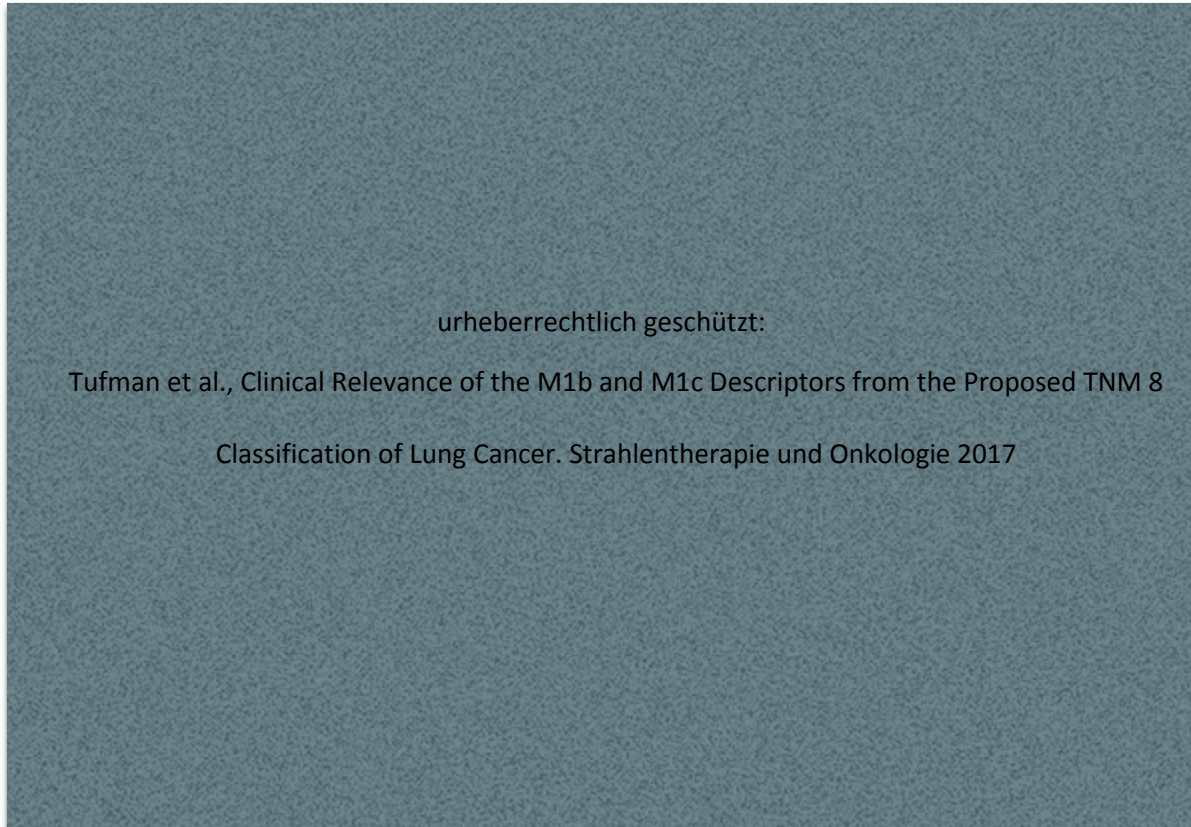
Metastase und wurden als M1c klassifiziert. Das Gesamtüberleben war in der M1b-Gruppe im Vergleich zur M1c-Gruppe höher (15,2 Monate vs. 7,2 Monate, $p=0.0029$; Abbildung 9).

Tabelle 12: Kohorte zur Evaluation der neuen M1b/ M1c Klassifizierung des metastasierten Lungenkarzinoms (Quelle: Tufman et al, 2017)

urheberrechtlich geschützt:

Tufman et al., Clinical Relevance of the M1b and M1c Descriptors from the Proposed TNM 8
Classification of Lung Cancer. Strahlentherapie und Onkologie 2017

Abbildung 9: Gesamtüberleben von Patienten mit M1b- bzw. M1c-Metastasierung
(Quelle: Tufman et al, 2017)



Wir fanden bei Patienten in der M1b-Gruppe, die eine solitäre Knochenmetastase hatten, im Vergleich zu Patienten mit einer solitären Hirn- oder Nebennierenmetastase ein tendenziell längeres Gesamtüberleben (Tabelle 13).

Patienten in der M1b-Gruppe, die keine zusätzlichen lokalen Lymphknotenmetastasen auswiesen und mit einer multimodalen Therapie behandelt wurden, zeigten das längste Gesamtüberleben (Tabelle 14).

urheberrechtlich geschützt:

Tufman et al., Clinical Relevance of the M1b and M1c Descriptors from the Proposed TNM 8
Classification of Lung Cancer. Strahlentherapie und Onkologie 2017

Tabelle 13: Anzahl und Lokalisation der Metastasen in der M1b/ M1c Kohorte sowie Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Art und Anzahl der Metastasen (Quelle: Tufman et al, 2017)

urheberrechtlich geschützt:

Tufman et al., Clinical Relevance of the M1b and M1c Descriptors from the Proposed TNM 8

Classification of Lung Cancer. Strahlentherapie und Onkologie 2017

Tabelle 14: Therapie und Gesamtüberleben in Abhängigkeit von Anzahl und Lokalisation der Metastasen in der M1b/ M1c Kohorte (Quelle: Tufman et al, 2017)

Insgesamt war der prognostische Wert der neuen M-Klassifikation am stärksten bei Patienten, die unter Einschluss eines PET-CTs klassifiziert wurden. Diese Daten sprechen für die wichtige Rolle von PET-CT-Untersuchungen bei der Diagnostik des Lungenkarzinoms. Die Rolle des PET-CTs bei der Beurteilung des Therapieansprechens beim Lungenkarzinom wurde auch anhand eines Fallberichts und einer Literaturzusammenstellung beschrieben (Tufman A., Müller-Lisse U et al., 2015).

4.0 Zusammenfassung und Ausblick:

Die individualisierte Therapie von Patienten mit fortgeschrittenem Lungenkarzinom hat die Therapie dieser Erkrankung in den letzten Jahren maßgeblich verändert und die Prognose für einzelne Patientengruppen deutlich gebessert.

Die aktuellen Arbeiten tragen zu einer weiteren Verbesserung der individualisierten Tumorthherapie bei. Wir konnten klinische Faktoren sowie CT-bildmorphologischen Kriterien, die mit molekularbiologischen Veränderungen einhergehen, charakterisieren und somit Situationen definiert, in denen die molekularbiologische Diagnostik priorisiert werden muss.

Zusätzlich haben wir die Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit EGFR-Mutation und ZNS-Metastasen untersucht, und die Wirksamkeit von Afatinib in dieser Situation bestätigt. Wir konnten auch die Machbarkeit eines innovativen Therapieschemas mit metronomem, oralem Vinorelbin untersuchen und die Grundlagen für weitere klinische Studien legen. Wir konnten die Messbarkeit und klinische Relevanz von Interleukin-22 in Lavageproben bei Lungentumorpatienten untersuchen und die klinische Relevanz von Lavage als minimalinvasives, diagnostisches Verfahren bei Lungenkrebspatienten belegen. Des Weiteren konnten wir die Relevanz der neuen TNM-Klassifizierung bei Patienten im metastasierten Stadium untersuchen und dabei eine Empfehlung zur PET-CT Untersuchung beim Staging formulieren.

Weitere Studien, die die Individualisierung der Therapie im lokal fortgeschrittenen sowie fortgeschrittenen Stadium weiterentwickeln sollen, sind geplant. Dabei sollen die Wirksamkeit der Lungenkrebstherapie weiter optimiert werden und der Einsatz von nicht-wirksamen Therapien und die damit verbundenen Kosten und Nebenwirkungen minimiert werden.

5.0 Literaturverzeichnis:

1. Bocci G, Kerbel RS. Pharmacokinetics of metronomic chemotherapy: a neglected but crucial aspect. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(11):659–673
2. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L et al., Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015; 373:1627-1639 October 22, 2015 DOI: 10.1056/NEJMoa1507643
3. Brahmer J., Reckamp K, Baas P. et al., Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015; 373:123-135 July 9, 2015 DOI: 10.1056/NEJMoa1504627
4. Eberhardt WE, Mitchell A, Crowley J et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the M Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015 Nov;10(11):1515-22. doi: 10.1097/JTO.0000000000000673.
5. Enewold L, Thomas A. Real-world patterns of EGFR testing and treatment with erlotinib for non-small cell lung cancer in the United States. *PLoS One*. 2016;11(6):e0156728.
6. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387:1837-46.
7. Guetz S*, Tufman A*, Pawel J, Rittmeyer A, Borgmeier A, Ferre P, Edlich B, Huber RM. Metronomic treatment of advanced non-small cell lung cancer with daily oral vinorelbine - a phase I trial. *Oncotargets and Therapy* 2017; 10:1081-1089. doi: 10.2147/OTT.S122106 . *contributed equally
8. Herbst RS, Baas P, Kim DW et al., Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet* 2016;387:1540–50. doi:10.1016/S0140-6736(15)01281-7

Kauffmann-Guerrero D, Huber RM, Reu S, Tufman A, et al., NSCLC Patients Harboring Rare or Complex EGFR Mutations Are More Often Smokers and Might Not Benefit from First-Line Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy. *Respiration*. 2018;95(3):169-176. doi: 10.1159/000484175. Epub 2017 Nov 30.

9. Kerbel RS, Kamen BA. The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(6):423–436.
10. Kim JH, Kim HS, Kim BJ. Prognostic value of smoking status in non-small-cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017 Jun 28;8(54):93149-93155. doi: 10.18632/oncotarget.18703. eCollection 2017 Nov 3.
11. Kobold S, Völk S, Clauditz T, Küpper NJ, Minner S, Tufman A, Düwell P, Lindner M, Koch I, Heidegger S, Rothenfuer S, Schnurr M, Huber RM, Wilczak W, Endres S. Interleukin-22 is frequently expressed in small- and large-cell lung cancer and promotes growth in chemotherapy-resistant cancer cells. *J Thorac Oncol*. 2013 Aug;8(8):1032-42. doi: 10.1097/JTO.0b013e31829923c8.
12. Hoffknecht* P, Tufman*A, Wehler T, Pelzer T, Wiewrodt R, Schütz M, Serke M, Stöhlmacher-Williams J, Märten A, Huber RM, Dickgreber M for the Afatinib Compassionate Use Consortium (ACUC). Efficacy of the Irreversible ErbB Family Blocker Afatinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI)-pretreated Non-small Cell Lung Cancer Patients with Brain Metastases or Leptomeningeal Disease. *J. Thorac Oncol*. 2014 Sep 22. *contributed equally
13. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K et al., Gefitinib or Chemotherapy for Non–Small-Cell Lung Cancer with Mutated EGFR; *N Engl J Med* 2010; 362:2380-2388 June 24, 2010 DOI: 10.1056/NEJMoa0909530
14. Malvezzi M, Carioli G, Bertuccio P et al., European cancer mortality predictions for the year 2017. *Annals of Oncology*, Volume 28, Issue 5: 1117–1123, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx033>

15. Masters GA, Temin S, Azzoli CG, et al. Systemic therapy for stage IV non–small-cell lung cancer update. *JCO*. 2015;33(30):3488–3517.
16. McPhail S, Johnson S et al., Stage at diagnosis and early mortality from cancer in England. *British Journal of Cancer* (2015) 112, S108–S115. doi:10.1038/bjc.2015.49
17. Mueller-Lisse* UG, Zimmermann HA, Reiners C, Reu S, Reiser MF, Huber RM, Tufman A*. Distinct computed tomography features of non-small-cell lung cancer in a European population with EML4-ALK translocation. *Magazine of European Medical Oncology* 2016 *contributed equally
18. Novello S, Barlesi F, Califano R, et al. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO clinical practice guidelines. *Ann Oncol*. 2016;27(suppl 5):v1–v27.
19. Peters S, Creelan B, Hellmann MD, et al: Impact of tumor mutation burden on the efficacy of first-line nivolumab in stage IV or recurrent non-small cell lung cancer: An exploratory analysis of CheckMate 026. 2017 AACR Annual Meeting. Abstract CT082.
20. Pisters und Le Chevalier, Adjuvant chemotherapy in completely resected non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2005; 23(14): 3270-3278.
21. Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson A et al., Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2016; 375:1823-1833, DOI: 10.1056/NEJMoa1606774
22. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicenter randomized controlled trial. *Lancet*. 2016; 389:255-65.
23. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al: Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 348:124-128, 2015.
24. Rosell R, Carcereny E, Gervais R et al., Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Mar;13(3):239-46. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70393-X.

25. Torimura T, Iwamoto H, Nakamura T, et al. Metronomic chemotherapy: possible clinical application in advanced hepatocellular carcinoma. *Transl Oncol.* 2013;6(5):511–519
26. Tufman A, Edelmann M, Gamarra F, Reu S, Borgmeier A, Schrödl K, Zauber R, Müller-Lisse U, Huber RM. Preselection Based on Clinical Characteristics in German Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Screened for EML4-ALK Translocation. *J Thorac Oncol.* 2014 Jan;9(1):109-13
27. Tufman A, Huber RM, Völk S, Aigner F et al., Interleukin-22 is elevated in lavage from patients with lung cancer and other pulmonary diseases. *BMC Cancer.* 2016; Jul 7;16:409. doi: 10.1186/s12885-016-2471-2.
28. Tufman A, Kahnert K, Duell T, Kauffmann-Guerrero D, Milger K, Schneider C, Stump J, Syunyaeva Z, Huber RM, Reu S Frequency and clinical relevance of EGFR mutations and EML4–ALK translocations in octogenarians with non-small cell lung cancer. *Oncotargets and Therapy.* 2017; Vol.2017:10: 5179—5186
29. Tufman A, Kahnert K, Kauffmann-Guerrero D et al., Clinical Relevance of the M1b and M1c Descriptors from the Proposed TNM 8 Classification of Lung Cancer. *Strahlentherapie und Onkologie* 2017; May;193(5):392-401. doi: 10.1007/s00066-017-1118-9. Epub 2017 Feb 28.
30. Tufman A., Müller-Lisse U, Reu S et al., The relevance of positron emission tomography response in non-small cell lung cancer. *Memo Magazine of European Medical Oncology* 2015(2)
31. Tufman A, Schrödl K, Scheithauer H, Duell T, Coppenrath E, Huber RM. Treatment of isolated intracranial progression of lung cancer during treatment with systemic epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs): a case report and review of the literature, *EMJ Respir.* 2015;3[1]:19-28.
32. Vansteenkiste J, Fehrenbacher L, Spira AI, et al. Atezolizumab monotherapy vs docetaxel in 2L/3L non-small cell lung cancer: primary analyses for efficacy, safety and

predictive biomarkers from a randomized phase II study (POPLAR). *Eur J Cancer*. 2015;LBA14:S716–S717.

33. Whittington HA, Armstrong L, Uppington KM, Millar AB. Interleukin-22: a potential immunomodulatory molecule in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004; 31(2): 220-6
34. Zhou C, Wu YL, Chen G et al., Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncology*; Volume 12, No. 8, p735–742, August 2011